

## 柠檬酸（CA）含量测定试剂盒（可见分光光度法）

注意：正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

产品货号：BA1232

产品规格：50管/48样

### 产品简介：

CA是生物体内常见的有机酸，是重要的食品风味物质。此外，CA是三羧酸循环第一步反应的产物。酸性条件下，柠檬酸还原Cr<sup>6+</sup>生成Cr<sup>3+</sup>，在545nm处有特征吸收峰；通过测定545nm吸光值的增加，即可计算出样品中柠檬酸含量。

### 产品内容：

试剂一：液体90mL×1瓶，4℃保存。

试剂二：液体10mL×1瓶，4℃保存。

试剂三：液体0.1mL×1管，-20℃保存。

试剂四：粉剂×1管，室温保存。临用前配制，加入5mL试剂一，充分溶解。

试剂五：液体5mL×1管，4℃避光保存。

标准品：液体1mL×1管，1mmol/L 柠檬酸标准液，4℃保存；临用前稀释成250μmol/L柠檬酸标准液。

### 需自备的仪器和用品：

低温离心机、水浴锅、可调式移液枪、可见分光光度计、1mL比色皿和蒸馏水。

### 操作步骤：

#### 一、样品中柠檬酸提取：

- 1、液体样品中柠檬酸提取：取0.1mL液体加试剂一0.9mL，充分混匀，11000g，4℃离心10min，取上清液，待测。
- 2、组织中柠檬酸提取：称约0.1g组织，加入1mL试剂一，冰上充分研磨，11000g/min 4℃离心10min，取上清液，待测。
- 3、线粒体中柠檬酸提取：称约0.1g组织，加入1mL试剂一，冰上充分研磨，600g/min，4℃离心5min；取上清至另一EP管中，11000g/min，4℃离心10min，弃上清（此上清液可用于细胞质CA含量测定）；向沉淀中加试剂二200μL，以及试剂三2μL，充分悬浮溶解，11000g/min，4℃离心10min，取上清液，待测。

#### 二、测定操作：

- 1、分光光度计预热30min，调节波长到545nm，蒸馏水调零。
- 2、试剂一置于30℃水浴中预热30min。
- 3、按下表在1.5mLEP 管中加入相应试剂

试剂名称（μL）	空白管	测定管	标准管
蒸馏水	100		
上清液		100	
标准品			100
试剂一		700	
试剂四		100	
试剂五		100	
充分混匀后室温静置30min，于545nm测定吸光度，记为A空白管，A测定管，A标准管。			



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719779

Q Q：807961520 731791866

邮箱：shsunbao@126.com

http://www.saint-bio.com

### 三、柠檬酸含量计算：

#### 1、按液体样品的体积计算：

$$\text{柠檬酸含量 (mmol/L)} = [\text{C标准液} \times (\text{A测定管} - \text{A空白管}) \div (\text{A标准管} - \text{A空白管})] \times \text{样品稀释倍数} \\ = 2.5 \times (\text{A测定管} - \text{A空白管}) \div (\text{A标准管} - \text{A空白管})$$

C标准液：250  $\mu$  mol/L=0.25 m mol/L； 样品稀释倍数：（0.1 mL样品+0.9mL试剂一） $\div$ 0.1 mL样品=10。

#### 2、按组织鲜重计算：

$$\text{柠檬酸含量 (}\mu\text{ mol/g FW)} = [\text{C标准液} \times (\text{A测定管} - \text{A空白管}) \div (\text{A标准管} - \text{A空白管})] \times \text{V总} \div \text{W} \\ = 0.25 \times (\text{A测定管} - \text{A空白管}) \div (\text{A标准管} - \text{A空白管}) \div \text{W}$$

C标准液：250  $\mu$  mol/L； V总：上清液总体积，1.0 mL=0.001 L； W：样品质量，g。

#### 3、按线粒体蛋白含量计算：

$$\text{柠檬酸含量 (}\mu\text{ mol/mg prot)} = [\text{C标准液} \times (\text{A测定管} - \text{A空白管}) \div (\text{A标准管} - \text{A空白管})] \div \text{Cpr} \\ = 0.25 \times (\text{A测定管} - \text{A空白管}) \div (\text{A标准管} - \text{A空白管}) \div \text{Cpr}$$

C标准液：250  $\mu$  mol/L=0.25  $\mu$  mol/mL； Cpr：上清液蛋白质含量，mg/mL。

### 注意事项：

- 1、样品处理等过程均需要在冰上进行。
- 2、试剂四需现配现用，配置好的一周内使用完；
- 3、试剂五为易致癌物质，实验过程中，需佩戴手套，避免试剂五溅到皮肤上。
- 4、柠檬酸提取液不能用于蛋白含量测定，如需测定需另取组织，用本公司BCA试剂盒进行测定。



扫一扫 加微信

**上海尚宝生物科技有限公司**

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719779

Q Q：807961520 731791866

邮箱：shsunbao@126.com

<http://www.saint-bio.com>